

**МИНСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ



Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

2018 г.

Регистрационный № *156-1418*

**МЕТОД ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ  
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ КОЖИ К ДАКАРБАЗИНУ**

**Инструкция по применению**

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

**Авторы:** д.м.н. Е.В. Шаповал, д.м.н. А.С. Портянко, к.м.н. А.Г. Жуковец, к.м.н. Е.И. Субоч, к.м.н. П.Г. Киселев, М.В. Якимова, Е.Н. Хоревич, К.Г. Рукша

**Минск, 2018**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Д. Л. Пиневиц

14.12.2018

Регистрационный № 156-1118

**МЕТОД ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ  
КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ КОЖИ К ДАКАРБАЗИНУ**

инструкция по применению

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

Авторы: д-р мед наук Е. В. Шаповал, д-р мед. наук А. С. Портянко, канд. мед. наук А. Г. Жуковец, канд. мед. наук Е. И. Субоч, канд. мед. наук П. Г. Киселев, М. В. Якимова, Е. Н. Хоревич, К. Г. Рукша

Минск 2018

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод прогнозирования чувствительности опухолевых клеток меланомы кожи к цитостатической терапии с назначением дакарбазина, основанный на определении экспрессии панели микроРНК (микроРНК-21, микроРНК-200b, микроРНК-221). Метод может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение меланомы кожи.

Предназначен для врачей лабораторной диагностики, врачей-онкологов, врачей-патологоанатомов, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам с метастатической меланомой кожи в стационарных и (или) амбулаторных условиях.

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

*Перечень необходимых медицинских изделий:*

1. Бокс биологической безопасности 2 класса (тип В2, без рециркуляции).
2. Термостат твердотельный с функцией охлаждения (от 4 до 100 °С).
3. Вортекс.
4. Микроцентрифуга, обеспечивающая скорость вращения ротора до 14000 об/мин.
5. Амплификатор (термоциклер) для ПЦР в режиме реального времени.
6. Автоматические дозаторы переменного объема.
7. Холодильник (от 2 до 8 °С).
8. Низкотемпературный морозильник (-70 °С).

*Перечень необходимых реактивов и расходных материалов:*

1. Набор реагентов для выделения общей фракции РНК (сорбционный принцип).
2. Набор реагентов для реакции обратной транскрипции микроРНК.
3. Набор реагентов для амплификации микроРНК с использованием ПЦР в режиме реального времени.
4. Олигонуклеотиды синтетические (праймеры).
5. Ксилол.
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**

Злокачественная меланома кожи.

## **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Отсутствуют.

## ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

### 1. Требования, предъявляемые к материалу для исследования.

Для проведения исследования используется опухолевая ткань меланомы кожи, фиксированная 10 %-м раствором нейтрального формалина и заключенная в парафин (срок хранения образцов не более 6 лет). Парафиновый блок должен содержать ткань меланомы с сохраненной структурой, отсутствием некроза и геморрагий, а также объемом опухолевой ткани не менее 75 % от общего объема гистологического материала. Выбор блока ткани для исследования проводится врачом-патологоанатомом, обладающим знаниями в области опухолевой патологии кожи.

### 2. Определение уровня экспрессии микроРНК.

Молекулярно-генетическая оценка экспрессионного профиля панели микроРНК производится согласно инструкции по применению № 109-1216 от 16.12.2016.

Последовательности специфических олигонуклеотидных праймеров для амплификации в режиме реального времени фрагментов кДНК генов микроРНК представлены в таблице.

Таблица — Праймеры для амплификации

микроРНК	Нуклеотидная последовательность праймера
микроРНК-21	5'-UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA-3'
микроРНК-200b	5'-UAAUACUGCCUGGUAUGAUGA-3'
микроРНК-221	5'-AGCUACAUUGUCUGCUGGGUUC-3'

3. Критериями чувствительности опухолевых клеток к цитостатической терапии с использованием дакарбазина у пациентов с метастатической меланомой кожи является любой из указанных признаков:

- сочетание уровня экспрессии микроРНК-21 ниже либо равно 0,42 отн. ед., уровня экспрессии микроРНК-200b ниже либо равно 9,69 отн. ед. и уровня экспрессии микроРНК-221 ниже либо равно 5,14 отн. ед.;

- сочетание уровня экспрессии микроРНК-21 ниже либо равно 0,42 отн. ед. и уровня экспрессии микроРНК-200b ниже либо равно 9,69 отн. ед.;

- сочетание уровня экспрессии микроРНК-21 ниже либо равно 0,42 отн. ед. и уровня экспрессии микроРНК-221 ниже либо равно 5,14 отн. ед.;

- уровень экспрессии микроРНК-21 ниже либо равно 0,42 отн. ед.

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

1. Использование 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.

2. Нарушения в технологии лабораторного тестирования (время инкубации, температурный режим и т. д.).

Устранение: точно следовать инструкции к используемому набору реагентов.