



Заместитель министра

Д.Л. Пиневиц

июня 2019 г.

Регистрационный № 085-0619

МЕТОД МЕТРОНОМНОЙ ПОДДЕРЖИВАЮЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Инструкция по применению

Учреждение–разработчик: 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., проф. Прохоров А.В., д.м.н. Портянко А.С.

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.

1. Показания к применению: злокачественные новообразования тонкого кишечника, ободочной кишки, ректосигмоидного соединения, прямой кишки.

2. Противопоказания к применению:

2.1. Метастатическое поражение головного мозга.

2.2. Острые и хронические заболевания в стадии декомпенсации.

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

3. Перечень необходимых медицинских изделий, реагентов, расходных материалов и т.п.

Перечень необходимых медицинских изделий:

3.1. Изделия медицинской техники для выполнения трепан-биопсии печени под ультразвуковой навигацией.

3.2. Изделия медицинской техники для проведения 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 проведения реакции обратной транскрипции РНК.

4. Набор реагентов для амплификации кДНК с использованием ПЦР в режиме реального времени.

5. Олигонуклеотиды синтетические (праймеры и флюоресцентно-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.

4. Технология использования предлагаемого метода

Метод, изложенный в инструкции, реализуется в несколько этапов.

4.1. Определение молекулярных маркеров чувствительности к метронормой поддерживающей химиотерапии

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

4.1.1. Выделение общей фракции РНК

Для проведения 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.

4.1.2. 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 произ-

водителя.

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

4.1.3. Постановка ПЦР в режиме реального времени

Для проведения ПЦР в режиме реального времени фрагментов кДНК генов *TP*, *TS*, *DPD* и *VEGFR1* применяется набор реагентов для амплификации и олигонуклеотиды синтетические (праймеры и флюоресцентно-меченые зонды), согласно инструкции производителя. Последовательности олигонуклеотидных праймеров и флюоресцентно-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'-GCAATTTGCTACTGAGGTATTCAAA-3'
<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-CTTTTGTCCAATAATGAAGAGTCC-BHQ1

В качестве референсного гена используется АСТВ.

4.1.4. Анализ результатов

Для оценки уровня экспрессии РНК используется метод *dCt*. При этом получают значения уровня флюоресценции 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 флюоресценции образца опухолевой ткани, анализируемого для оценки экспрессии гена-мишени;

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

4.1.5. Критерии чувствительности к лекарственным средствам

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

– относительный уровень экспрессии гена TP больше 6,850 отн. ед.;

– относительный уровень экспрессии гена TS ниже либо равен 6,641 отн. ед.;

– относительный уровень экспрессии гена DPD ниже либо равен 6,059 отн. ед.;

– относительный уровень экспрессии гена VEGFR1 ниже либо равен 5,456 отн. ед.

4.2. Схема приема лекарственных средств

Лекарственные средства назначаются по следующей схеме:

– капецитабин в дозе 500 мг 3 раза в сутки в таблетированной форме;

– циклофосфан 50 мг 1 раз в сутки в таблетированной форме.

Прием лекарственных средств проводится до определения прогрессирования опухолевого процесса.

4.3. Наблюдение за пациентами

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

В обязательный объем исследования входят:

4.3.1. Объективный осмотр пациента

4.3.2. Лабораторные исследования, выполняемые общепринятыми методами:

- развернутый общий анализ крови;
- биохимический анализ крови (общий белок, билирубин, мочеви-на, креатинин, глюкоза, общий билирубин, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ));
- определение опухолевых маркеров (РЭА, СА19-9).

4.3.3. Компьютерная томография (КТ) целевых очагов

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

5. Перечень возможных осложнений или ошибок при выполне-нии метода и пути их устранения

5.1. Осложнения во время и после выполнения трепан-биопсии печени

Устранение: использовать общехирургические стандартные подходы.

5.2. Несоблюдение условий транспортировки и хранения биологиче-ского материала

Устранение: соблюдать правила получения, транспортировки и хране-ния биологического материала.

5.3. 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.

5.4. Осложнения и побочные реакции при проведении химиотерапии

Устранение: назначить посиндромную терапию, решить вопрос о ре-дукции дозы или отмене химиотерапевтического лечения.

УТВЕРЖДАЮ

руководитель учреждения, в котором

внедрен метод

« » _____ 20 г.

АКТ О ВНЕДРЕНИИ

1. Наименование предложения для внедрения: Метод метрономной поддерживающей химиотерапии колоректального рака

2. Кем предложено (наименование учреждения-разработчика, автор): ГУ РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, 223040 Минский р-н, аг. Лесной-2; УО «Белорусский государственный медицинский университет»; Стрельцова О.В., Батура К.Н., Смирнов С.Ю., Рукша К.Г., к.м.н. Субоч Е.И., д.м.н., проф. Прохоров А.В., д.м.н. Портянко А.С.

3. Источник информации: инструкция по применению № 085-0619, 2019 г.

4. Где и когда начато внедрение _____
наименование лечебного

_____ учреждения, дата внедрения

5. Общее количество наблюдений _____

6. Результаты применения способа за период с _____ по _____

положительные (количество наблюдений) _____

неопределенные (количество наблюдений) _____

отрицательные (количество наблюдений) _____

7. Эффективность внедрения: _____

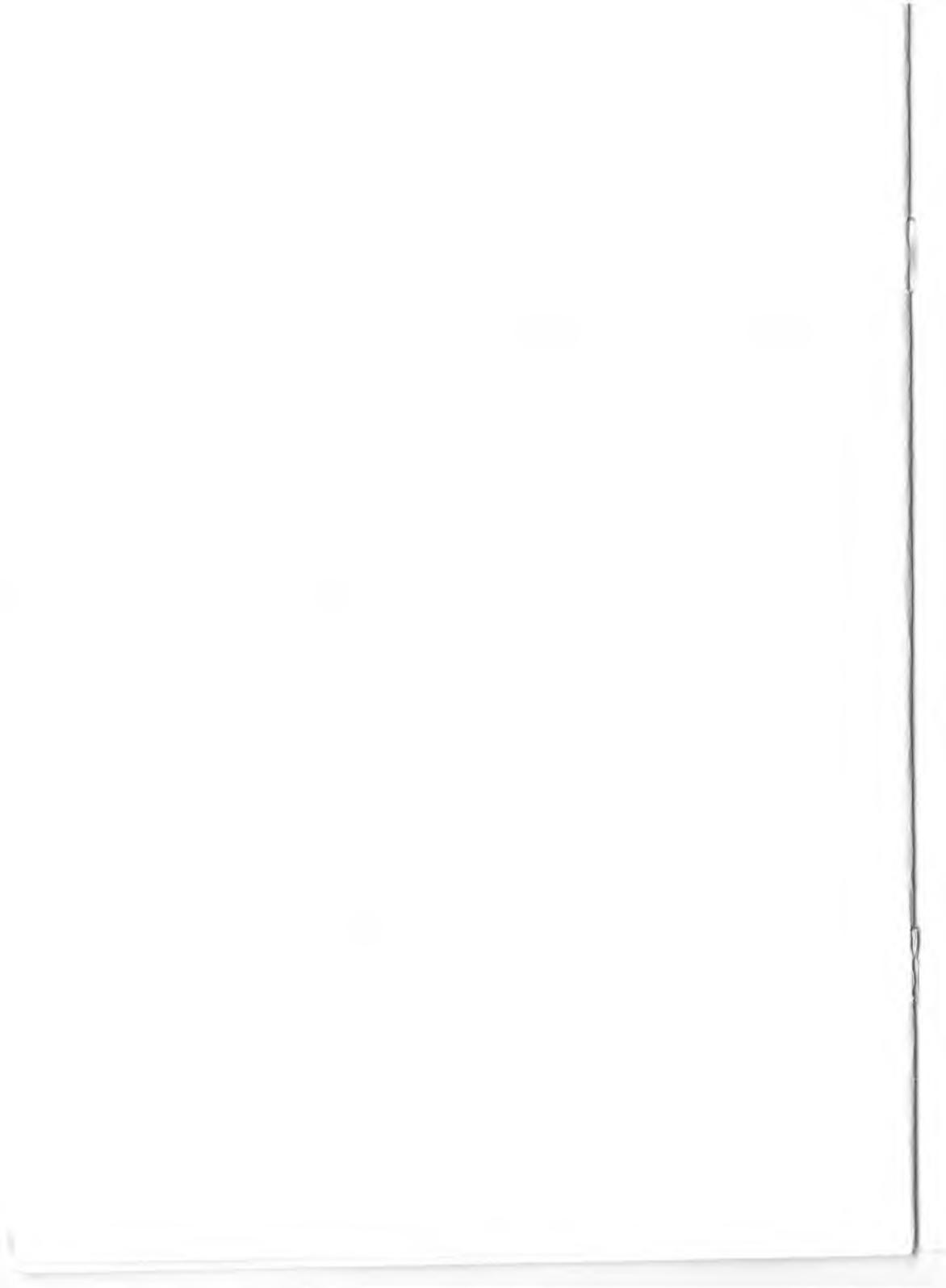
8. Замечания, предложения _____

Дата _____

Ответственные
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.



**О.В. Стрельцова, К.Н. Батура, С.Ю. Смирнов, К.Г. Рукша, Е.И. Субоч,
А.В. Прохоров, А.С. Портянко**

МЕТОД МЕТРОНОМНОЙ ПОДДЕРЖИВАЮЩЕЙ ХИМИОТЕРАПИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Инструкция по применению

Редактор – А.И. Житомирский

Компьютерная верстка и изготовление
оригинала-макета – Н.Н. Редько

Подписано к печати 16.07.2019 г.

Формат 60×80 1/8. Усл. печ. л. 0,4.

Тираж 30 экз. Заказ № 27.

ГУ РНПЦ онкологии и медицинской радиологии
им. Н.Н. Александрова», 223040, Минский р-н, аг. Лесной