

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц



10 2013 г.

Регистрационный № 076-0713

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ХИМИОТЕРАПИИ
ТАКСАНАМИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ СЕРОЗНОГО РАКА
ЯИЧНИКОВ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

АВТОРЫ:

к.м.н., доцент Шелкович Светлана Евгеньевна

д.м.н., профессор, член-корр. НАН РБ Демидчик Юрий Евгеньевич

аспирант кафедры онкологии Анищенко Анна Евгеньевна

к.м.н. Рябцева Светлана Николаевна

Минск, 2013

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Д.Л. Пиневич
07.10.2013
Регистрационный № 076-0713

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ХИМИОТЕРАПИИ
ТАКСАНАМИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ СЕРОЗНОГО РАКА
ЯИЧНИКОВ**

инструкция по применению

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

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. С.Е. Шелкович, д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН
Беларуси Ю.Е. Демидчик, А.Е. Анищенко, канд. мед. наук С.Н. Рябцева

Минск 2013

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен метод определения чувствительности к химиотерапии таксанами в комплексном лечении серозного рака яичников, применение которого позволит улучшить результаты лечения данной патологии.

Инструкция предназначена для врачей-онкологов, врачей-патоморфологов.

Уровень внедрения: онкологические диспансеры, онкологические центры, кафедры онкологии.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

1. Визуализирующая система.
2. Микротом фирмы.
3. Предметные стекла.
4. Термостат.
5. Демаскировочный буфер рН = 6,0.
6. Антитело TLE-3.
7. Фосфатный буфер рН = 7,0.
8. Гематоксилин Майера.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Распространенный серозный рак яичников.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Не выявлены.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

На первом этапе пациенткам проводится хирургическое лечение в объеме циторедуктивной операции (полная циторедукция — нет остаточной опухоли; оптимальная циторедукция — размер остаточной опухоли до 1 см; субоптимальная циторедукция — размер остаточной опухоли от 1 до 2 см; неоптимальная циторедукция — размер остаточной опухоли более 2 см). После операции проводится гистологическое исследование удаленного препарата. При выявлении серозного рака яичников проводится иммуногистохимическое исследование гистологических препаратов.

Гистологические срезы толщиной 4 мкм нарезаются на микротоме фирмы и укладываются на предметные стекла, после просушки по стандартной методике на следующий день помещаются на 30 мин в термостат при температуре 37°C. Иммуногистохимическое исследование осуществляется по стандартной пероксидазно-антипероксидазной методике с использованием системы визуализации.

Гистологические срезы толщиной 4 мкм помещаются на 30 мин в термостат при температуре 37°C. После 15-минутного остывания срезы депарафинизируются в ксилоле (две смены по 15 мин) и обезвоживаются в спиртах понижающей концентрации (96, 70 и 50%) по 5 мин в каждом. После споласкивания в дистиллированной воде проводится энзимная обработка тканевого материала в

течение 10 мин в термостате при температуре 37°C с использованием протеиназы К. Термическая демаскировка антигена выполняется в цитратном буфере (pH = 6,0) в водяной бане при температуре 97°C в течение 10 мин.

После остывания при комнатной температуре в течение 20 мин и троекратной промывки в промывочном буфере на срезы наносится 1% раствор перекиси водорода на 10 мин. Далее срезы промываются троекратно в промывочном буфере по 2 мин. Затем выполняется инкубация с первичным антителом — TLE-3 в рабочем разведении 1:300 в течение 1 ч.

После троекратной промывки выполняется инкубация с визуализирующей системой также в течение 1 ч. Затем на срезы наносится раствор диаминобензидина (ДАБ) на 10 мин при комнатной температуре. После троекратной промывки (по 2 мин) в дистиллированной воде проводится окрашивание ядер клеток гематоксилином Майера: стекла со срезами помещаются в раствор на 10 мин при комнатной температуре. Далее выполняется повторное обезвоживание срезов в спиртах повышающейся концентрации (50, 75, 96%) с инкубацией по 5 мин в каждом и обесцвечивание в ксилоле (две смены по 10 мин). После чего срезы заключаются под покровное стекло с помощью бальзама.

Иммуногистохимическое исследование проводится с постановкой положительного и отрицательного контролей. В качестве позитивного контроля используется внешний положительный контроль: ткань хордоидной менингиомы. При постановке отрицательного контроля методика иммуногистохимического исследования исключает нанесение первичного антитела.

На светооптическом уровне при изучении гистологических препаратов с помощью микроскопа фирмы (увеличение x100, x200, x400) оценивается ядерная экспрессия маркера с расчетом процента окрашенных клеток без учета интенсивности пероксидазной метки. Для чего в 10 произвольно выбранных полях зрения на большом увеличении (x400) проводится подсчет клеток с ядерной экспрессией и без таковой и расчет их процентного соотношения для каждого случая.

Очаговое коричневое окрашивание 30–100% ядер опухолевых и/или стромальных клеток свидетельствует о положительной экспрессии TLE3 в опухолевом образце, очаговое коричневое окрашивание 0–29% ядер опухолевых и/или стромальных клеток — об отрицательной экспрессии TLE3.

При выявлении положительной экспрессии TLE3 пациентке в схеме адьювантной полихимиотерапии назначаются таксаны, при выявлении отрицательной экспрессии — другие лекарственные средства.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Ложноположительное цитоплазматическое окрашивание.

Пути устранения:

1. Снижение времени термической демаскировки в сочетании с энзимной демаскировкой антигена.

2. Увеличение концентрации антигена.