



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62167 (13) U
(51) МПК
G01N 33/48 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ПОКАЗАНЬ ДО ІНДИВІДУАЛІЗОВАНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ МОЛОДОГО ВІКУ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

1

2

(21) u201102507

(22) 03.03.2011

(24) 10.08.2011

(46) 10.08.2011, Бюл.№ 15, 2011 р.

(72) ЗАХАРЦЕВА ЛЮБОВ МИХАЙЛІВНА, ЛОБАНОВА ОЛЬГА ЄВГЕНІЇВНА, ЧЕШУК ВАЛЕРІЙ ЄВГЕНОВИЧ, ЩЕПОТІН ІГОР БОРИСОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб визначення показань до індивідуалізованого лікування хворих молодого віку на рак молочної залози, що включає проведення патогістологічного та імуногістохімічного дослідження пухлини і виявлення в ній рецепторів естрогену та прогестерону, мікрометастазів в лімфатичних вузлах, експресії bcl-2, білка c-erbB-2, онкобілка p53,

рівня проліферативної активності, інвазії судин, який **відрізняється** тим, що додатково виявляють частоту мутацій генів BRCA1 (OMIM 113705) і BRCA 2 (OMIM 600185), експресію маркерів апоптозу (Mcl-1, Bag-1, Bax, p21, p63), епідермального фактора росту (HER-1), факторів ангіогенезу (VEGFR) і при рівні показників: CK5/14(CK5/6)+, HER1+, EVGFR+ і Ki67, p53 і p63 з експресією вище 20 % клітин раку хворих відносять до групи високого ризику агресивного перебігу раку та призначають індивідуалізоване комплексне лікування (ПХТ, ГТ, ПТ, таргетна терапія) з урахуванням провісних показників, при відсутності зазначених показників хворих відносять до групи низького ризику з позитивним клінічним перебігом.

Корисна модель належить до медицини, а саме до способів визначення показань до індивідуалізованого лікування онкологічних захворювань, і може бути використана в онкології, онкохірургії, в практиці онкологічних диспансерів, відділень, клінік, мамологічних центрів при діагностиці та лікуванні раку молочної залози.

Рак молочної залози найбільш розповсюджене онкологічне захворювання у жінок і в багатьох економічно розвинених країнах світу протягом останніх десятиріч займає перше місце в структурі онкологічної захворюваності (1, 2).

Рак молочної залози частіше зустрічається у жінок передменопаузального і постменопаузального віку. Питома вага раку молочної залози серед жінок, що хворі на онкологічні захворювання в віковій групі від 18 до 29 років, становить 6,2 %, а від 55-75 років - 19,3 %. В різних країнах світу серед хворих на рак молочної залози пацієнтки молодого віку складають від 3 до 7 %, в Україні - 3,4 %. Показник захворюваності жінок до 35 років в Україні дорівнює 5 на 100000 жіночого населення, що нижче, ніж в інших вікових групах, але темпи його росту в Україні серед жінок молодого віку доволі суттєві. Так порівняно з 1998 роком в 2008 році він виріс в 1,6 разу, в той час як в загальній

групі в 1,19 разу. В структурі ракових захворювань жінок молодого віку перше місце займає рак молочної залози, який становить 40 % (3, 4, 5).

Довгий час вивченню особливостей раку молочної залози у пацієнток молодого віку не приділялось належної уваги. Результати більшості досліджень в різних країнах світу показали, що рак молочної залози у пацієнток молодого віку часто має агресивний клінічний перебіг. Серед фахівців до цього часу немає єдиної думки відносно молекулярно-біологічної характеристики раку молочної залози у молодих. Але ця інформація важлива, тому що протоколи лікування формуються на базі цілого ряду прогностичних і провісних факторів, основними з яких є молекулярно-біологічні показники (6, 7). Причини гіршого клінічного перебігу захворювання у пацієнток молодого віку до кінця не визначено.

Морфологічні і молекулярно-біологічні показники раку мають велике прогностичне значення. Багато досліджень показало, що тривалість життя хворих на рак молочної залози залежить не тільки від стадії захворювання. Принаймні клінічний перебіг обумовлено внутрішньоклітинними (молекулярно-біологічними) факторами самої пухлини. Молекулярно-біологічні та генетичні дослідження

(19) UA (11) 62167 (13) U

грають велику роль в розумінні ступеня злоякісності новоутворення. Ключовим моментом неопластичної трансформації є ланцюг генетичних порушень, який призводить до неконтрольованого росту клітин, порушенню апоптозу та втрати диференціації тканини. За результатами багатьох досліджень на сьогоднішній день відомо, що гістологічний варіант, гістологічна диференціація РМЗ, статус ER, PR і HER2, мітотична активність та інші показники впливають на клінічний перебіг РМЗ (8, 9, 10, 11). Тому ці прогностичні показники широко використовують в практичній онкології для вибору тактики лікування.

Прогностичні показники раку молочної залози пацієнток молодого віку достатньо не вивчено. Поодинокі дослідження вказують на різницю показників ER, PR, HER2, маркерів апоптозу, індексу проліферативної активності в пухлинах хворих молодого і похилого віку.

Крім молекулярно-біологічних критеріїв, в сучасній онкології широке значення має генетичне дослідження. В останнє десятиріччя вирішення питання ранньої діагностики та профілактики раку молочної залози пов'язують з відкриттями в молекулярній генетиці. Фундаментальні дослідження в цій галузі суттєво змінили уявлення про структуру генів, взаємодію ген-білок, генотип-фенотип, що має суттєве прикладне значення для трактовки клінічного, біохімічного та морфологічного фенотипу раку молочної залози, а також для прогнозованого розвитку і профілактики спадкових варіантів раку молочної залози (12, 13).

Стосовно хворих до 35 років в європейських стандартах лікування (ESMO) і національних стандартах, затверджених МОЗ України у 2007 році, методи індивідуального підходу в лікуванні не вказані. Враховуючи те, що для хворих молодого віку прогностичні фактори окремо не розроблено, а також те, що «вік хворої до 35 років» є показником негативного клінічного перебігу захворювання, ці хворі лікуються з застосуванням всіх методів лікування, в тому числі великої кількості курсів ПХТ. Але це не дозволило покращити показники виживаності, які на 10-15 % нижчі ніж інших вікових групах.

Відомий спосіб визначення показань до комплексного лікування хворих на рак молочної залози, вибраний як прототип (14), що передбачає проведення патогістологічних та імуногістохімічних досліджень пухлини і виявлення в ній рецепторів естрогену та прогестерону, додатково досліджують мікрометастази в лімфатичних вузлах за допомогою цитокератинів, визначають експресію bcl-2, білка c-erbB-2, онкобілка p53, рівень проліферативної активності - із застосуванням антитіл Ki-67, інвазію судин за допомогою антитіл CD31, CD34, та при наявності гіперекспресії рецепторів стероїдних гормонів та інших онкомаркерів призначають індивідуалізоване комплексне лікування. Разом з тим, незважаючи на свої позитивні сторони, цей спосіб має наступні недоліки:

а) відсутні прогностичні та провідні характеристики пухлин хворих на рак молочної залози молодого віку;

б) не вказано методи індивідуального підходу в лікуванні хворих молодого віку;

в) відсутність передбачення перебігу захворювання та відносної чутливості до спеціального лікування призводить до погіршення показників виживаності хворих на рак молочної залози молодого віку.

Задачею корисної моделі, що заявляється, є підвищення точності визначення показань до індивідуалізованого лікування хворих на рак молочної залози молодого віку.

Технічний результат, що отримують в результаті вирішення задачі, полягає у збільшенні тривалості безрецидивного періоду та терміну виживаності шляхом індивідуалізації лікування з урахуванням морфологічних, молекулярно-біологічних та генетичних факторів.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі визначення показань до комплексного лікування хворих на рак молочної залози, що включає проведення патогістологічного та імуногістохімічного дослідження пухлини і виявлення в ній рецепторів естрогену та прогестерону, мікрометастазів в лімфатичних вузлах, експресії bcl-2, білка c-erbB-2, онкобілка p53, рівня проліферативної активності, інвазії судин, згідно з корисною моделлю, додатково виявляють частоту мутацій генів BRCA1 (OMIM 113705) і BRCA 2 (OMIM 600185), експресію маркерів апоптозу (Mcl-1, Bag-1, Bax, p21, p63), епідермального фактора росту (HER-1), факторів ангиогенезу (VEGFR) і при рівні показників: CK5/14(CK5/6)+, HER1+, EVGFR+ і Ki67, p53 і p63 з експресією вище 20 % клітин раку хворих відносять до групи високого ризику агресивного перебігу раку та призначають індивідуалізоване комплексне лікування (ПХТ, ГТ, ПТ, таргетна терапія) з урахуванням провідних показників, при відсутності зазначених показників хворих відносять до групи низького ризику з позитивним клінічним перебігом.

Спосіб виконується наступним чином:

Тканина пухлин молочної залози хворих на рак молочної залози досліджується за допомогою патогістологічних методів - для визначення морфологічних особливостей, зокрема гістологічного варіанта, ступеня диференціації, мітотичної активності, інвазії судин пухлин; імуногістохімічних - для визначення частоти експресії імуногістохімічних маркерів апоптозу (Mcl-1, Bag-1, Bax, p21, p53, p63), рецепторів естрогену та прогестерону (ER/PR), епідермальних факторів росту (HER-2, HER-1), факторів ангиогенезу (VEGFR), мітотичної активності (Ki-67); генетичних - з метою визначення частоти мутацій генів BRCA1 (OMIM 113705) і BRCA 2 (OMIM 600185); клінічних - з метою оцінки ефективності лікування на підставі дослідження результатів виживаності хворих та безрецидивного періоду.

Запропоновано перелік показників раку молочної залози для хворих віком до 35 років, які дозволяють розділити хворих на групи з прогнозованим позитивним та негативним клінічним перебігом. Враховуючи, що сам вік хворої „до 35 років" є показник негативного перебігу захворювання, для розділу цих пацієнтів на прогностичні

групи необхідно враховувати більшу кількість показників. До групи з високим ризиком агресивного перебігу раку запропоновано віднести, крім вже відомих для групи хворих віком після 35 років показників (pT>2, метастазами в ≥ 4 лімфатичних вузлах, G2-3, інвазія перитуморальних судин, EP/PP-, HER2/neu+), також нові показники: CK5/14(CK5/6)+, HER1+, EVGFR+ і Kv67, p53 і p63 з експресією вище 20 % клітин раку. Виділення серед молодих пацієнток групи хворих з позитивним клінічним перебігом дозволить зменшити показання до ПХТ і тим чином побічні ускладнення від лікування. А в групі хворих з негативним клінічним прогнозом індивідуалізоване комплексне лікування (ПХТ, ГТ, ПТ, таргетна терапія) з урахуванням провідних показників приведе до підвищення ефективності терапії і покращення віддалених результатів. Запропоновані прогностичні показники статистично істотні, що обґрунтовує перспективність використання молекулярно-біологічної оцінки пухлини у плануванні терапії.

Таким чином визначення показань до індивідуалізованого комплексного лікування хворих на рак молочної залози молодого віку з урахуванням запропонованих факторів, сприяє підвищенню ефективності комплексного лікування хворих на рак молочної залози молодого віку, зокрема за рахунок збільшення тривалості безрецидивного періоду та терміну виживаності.

Приклади конкретного виконання запропонованого способу:

1. У хворої Д., (амбулаторна карта хворого № 5840/04, 32 роки, був встановлений діагноз: рак правої молочної залози стадія ІВ, T2N1M0, клінічна група ІІ. 31.05.2005 проведена операція - радикальна мастектомія справа. При патогістологічному дослідженні № 19067-71 виявлено: інфільтруючий протоковий рак молочної залози середнього ступеня диференціювання, в 2 з 10 лімфовузлах виявлено метастази. При імуногістохімічному дослідженні виявлено: рецептор естрогенів - „-“ негативна реакція, рецептор прогестерону - „-“ негативна реакція, Her-2/neu - негативна реакція, CK 5/14 - позитивна реакція, p53 - 40 %, p63 - 40 %, Ki-67 - „40 %“ позитивна реакція, p21 - 20 %, Bag1- негативна реакція, Mcl1- негативна реакція, BRCA- негативна реакція, pS2- негативна реакція, HER1- негативна реакція, VEGFR- негативна реакція, інвазія судин не визначена. При генетичному дослідженні не виявлено мутації генів BRCA 1, 2. Хворій з урахуванням вищенаведених даних було призначено наступне лікування: 6 курсів ад'ювантної хіміотерапії за схемою FAC, після операційний курс променевої терапії на шляхи регіонарного лімфовідтоку. При профілактичних оглядах за 5 років після лікування ознак рецидиву та прогресування захворювання не було виявлено.

2. У хворої П., (амбулаторна карта хворого № 11189/02), 35 років, був встановлений діагноз: рак правої молочної залози стадія ПА, T2N0M0, клінічна група ІІ. 15.05.2003 проведена операція - радикальна мастектомія за Мадденом справа. При патогістологічному дослідженні № 23134/03 виявлено: інфільтруючий протоковий рак молочної залози середнього ступеня диференціювання, без

наявності метастазів в регіонарних лімфатичних вузлах. При імуногістохімічному дослідженні виявлено: мікрометастази у лімфатичних вузлах не виявлені, рецептор естрогенів - „+“ позитивна реакція, рецептор прогестерону - „+“ позитивна реакція, Her-2/neu - „-“ негативна реакція, CK 5/14 - негативна реакція, p53- негативна реакція, p63- негативна реакція, Ki-67 - „20 %“, p21 - негативна реакція, Bag1- негативна реакція, Mcl1- негативна реакція, BRCA- негативна реакція, pS2- негативна реакція, HER1- негативна реакція, VEGFR- негативна реакція, інвазія судин не визначена. При генетичному дослідженні виявлено мутацію 5382 insC. Хворій з урахуванням вищенаведених даних було призначено наступне лікування: курс променевої терапії на шляхи регіонарного лімфовідтоку та гормонотерапія - золадекс з наступним призначенням фемари. При профілактичних оглядах за 5 років після лікування ознак рецидиву та прогресування захворювання не було виявлено.

Пропонований спосіб визначення показань до індивідуалізованого лікування хворих на рак молочної залози молодого віку виявився ефективним при лікуванні більш ніж 100 хворих хірургічного відділення Київської міської онкологічної лікарні. В усіх випадках був отриманий позитивний клінічний результат, що проявився у збільшенні тривалості безрецидивного періоду та терміну виживання.

Література:

1. Althuis M. Global trends in breast cancer incidence and mortality 1973-1997 / M.D. Althuis, J.M. Dozier, W.F. Anderson, S.S. Dvesa, L.A. Brsnton // *Int J Epidemiol.* - 2005. - № 34. - P. 405-412.
2. Рак в Україні, 2006-2007 (захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби): Бюлетень Національного канцер-реєстру України. - К. 2008. - № 9. - 94 с.
3. Brinton L.A. Recent trends in breast cancer among younger women in the United States / L.A. Brinton, M.E. Sherman, J.D. Carreon // *JNCI|Brief Communications.* - 2008. - Vol. 100. - P. 1643-1648.
4. De Ridder M. Young and old age are poor prognostic factors in women with advanced breast cancer/ M. De Ridder, G.Vlastos, V. Vinh-Hung, S. Aelbi, G. Storme // *Abstract book 5th European Breast Cancer Conference.* - Nice.-France. - 21-25 March 2006. - abstract 298.
5. Musolino A. BRCA mutations, molecular markers, and clinical variables in early-onset breast cancer: a population-based study // A. Musolino, M.A. Bella, B. Bortesi, M. Michiara, N. Naldi, P. Zanelli, M. Capelletti, D. Pezzuolo, R. Camisa, M. Savi, T. Neri, A. Ardizzoni // *Breast.* - 2007. V. 16 (3). - P. 280 - 292.
6. Goldhirsch A. 10th St. Gallen conference. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007 / A. Goldhirsch, W.C. Wood, R.D. Gelber, A.S. Coates, B. Thürlimann, H.J. Senn // *Ann Oncol.* - 2007. - № 18 (7). - P. 1133-44.
7. Стандарти діагностики і лікування онкологічних хворих: Затверджено наказом Міністерства охорони здоров'я України "Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «онкологія» від 17.09.2007, № 554. - [Чин-

ний від 17.09.2007]. - Київ: СПД Морозов, 2007. - 202 с. - (Національний стандарт України)].

8. Lakhani R.S. Prediction of BRCA 1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype / S.R. Lakhani, J.S. Reis-Filho, L. Fulford [et al] // Clin. Cancer Res. - 2005. - № 11. - P. 5175-80.

9. Nemoto T. Management and survival of female breast cancer: results of a national survey by the American College of Surgeons / T. Nemoto, J. Vana, R.N. Bedwani, H.W. Baker, F.H. McGregor, G.R. Murphy // Cancer. - 1980. - V.45. - P. 2917-2924.

10. Albain K.S. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are the age differentials? / K.S. Albain, D.C. Allred, G.M. Clark // Journal of the National Cancer Institute Monographs. - 1994. - № 16 - P. 35-42.

11. Matthews R.H. Prognostic implications of age in breast cancer patients treated with tumorectomy

and irradiation or with mastectomy / R.H. Matthews, M.D. McNeese, E.D. Montague, M.J. Oswald // J. Radiation Oncology, Biology, Physics. - 1988. - V 14. - № 4 - P. 659-663.

12. Klauber-DeMore N. Tumor biology of breast cancer in young women / N. Klauber-DeMore // Breast Disease. - 2005, 2006. - Vol. 23. - № 1. - P. 9-15.

13. Gluck I. Prognostic characteristics in young premenopausal breast cancer patients compared to older premenopausal patients / I. Gluck, I. Wolf, S. Sadetzki [et al] // Abstract book 2003 ASCO Annual Meeting / - 2003.- abstract 3604.

14. Патент 8829 UA, МКІ 7 G01N 33/48 Лобанова О.Є., Щепотін І.Б., Захарцева Л.М. Спосіб визначення показань до комплексного лікування хворих на рак молочної залози. № u200502169; заявл. 10.03.2005; опубл. бюл. № 8, 15.08.2005.