



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **106148** (13) **C2**
(51) МПК (2014.01)
A61B 10/00
G01N 33/49 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2013 04133	(72) Винахідник(и): Чехун Василь Федорович (UA), Шепіль Олександр Володимирович (UA), Лук'янова Наталія Юріївна (UA), Антіпова Светлана Володимирівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 02.04.2013	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ, вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.07.2014	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Stevens R.G, Cologne J.B, Nakachi K, Grant E.J, Neriishi K. Body iron stores and breast cancer risk in female atomic bomb survivors. // Cancer Sci. 2011.- Vol. 102. - P.2236-2240 Mishra S., Sharma D. C, Sharma P. Studies of biochemical parameters in breast cancer with and without metastasis. // Indian J Clin Biochem. - 2004. - Vol. 19. - P. 71-75 UA 41803 U, 10.06.2009 RU 2393484 C1, 27.06.2010 RU 2469651 C2, 20.12.2011
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.11.2013, Бюл.№ 22	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2014, Бюл.№ 14	

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО НЕОАД'ЮВАНТНОЇ ТЕРАПІЇ У ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

(57) Реферат:

Винахід стосується способу прогнозування чутливості до неоад'ювантної терапії у хворих на рак молочної залози, що полягає у визначенні перед першим курсом неоад'ювантної хіміотерапії у хворих рівня феритину в сироватці крові за допомогою методу твердофазного імуноферментного аналізу. Якщо значення рівнів феритину в сироватці крові хворих <200 нг/мл, то чутливість пухлин молочної залози до неоад'ювантної хіміотерапії є високою, а якщо значення рівнів феритину в сироватці крові хворих ≥ 200 нг/мл - то такі хворі є резистентними до неоад'ювантної хіміотерапії.

UA 106148 C2

Винахід, що заявляється, належить до галузі медицини, зокрема до клінічної онкології.

Вдосконалення підходів до лікування раку молочної залози (РМЗ) все ще залишається однією з актуальних проблем онкології. Обов'язковим етапом комплексного лікування хворих на місцеворозповсюджений РМЗ II-IV стадії є неoad'ювантна хіміотерапія. Однією з основних причин незадовільних результатів лікування хворих на РМЗ є резистентність до неoad'ювантної терапії.

Сьогодні в клінічній практиці використовується низка прогностичних показників, але до цього часу не існує об'єктивних критеріїв визначення чутливості РМЗ до неoad'ювантної терапії, які б представляли дані про відповідь на введення протипухлинних препаратів на рівні організму. Всі відомі позапухлинні прогностичні показники і маркери, що використовуються в онкологічній практиці, характеризують лише агресивність перебігу чи ризик виникнення рецидиву РМЗ.

Останнім часом в літературі з'явилися дані, що свідчать про прогностичне значення рівня феритину сироватки крові хворих на РМЗ. Зокрема, встановлено, що концентрація феритину в сироватці крові хворих на РМЗ суттєво перевищує показники норми. Підвищення рівня цього маркера пов'язане з розвитком регіонарних та віддалених метастазів та з виникненням рецидиву [1-3].

Відомі способи прогнозування перебігу РМЗ базуються на визначенні рівня певних позапухлинних маркерів (раковий ембріональний антиген, СА-15-3, САМ26 та ін.) в сироватці крові хворих [4-7]. Спільним недоліком відомих способів прогнозу захворювання на підставі визначення рівня маркерів у сироватці крові хворих на РМЗ є те, що вони орієнтовані лише на визначення тривалості періоду виживаності хворих та виникнення рецидиву захворювання і застосовуються як прогностичні критерії перебігу РМЗ, не надають інформації щодо чутливості або резистентності пухлин молочної залози до стандартних схем неoad'ювантної хіміотерапії.

Найбільш близьким аналогом способу, що заявляється, вибраним як прототип, є спосіб прогнозування чутливості РМЗ за рівнем експресії молекулярних маркерів в пухлинних клітинах [8]. Позитивним у прототипі є те, що проводиться дослідження рівня експресії декількох маркерів (рецепторний статус, показники апоптозу та проліферації тощо), що дозволяє більш адекватно прогнозувати чутливість до неoad'ювантної терапії. Недоліками прототипу є те, що:

1. Дослідження експресії молекулярних маркерів проводиться за допомогою імуногістохімічного методу на парафінових зрізах операційного матеріалу, що не дозволяє ек темпоре визначати чутливість пухлин хворих на РМЗ до неoad'ювантної хіміотерапії.

2. Імуногістохімічне визначення експресії молекулярних маркерів потребує більших затрат часу і матеріальних ресурсів.

3. Імуногістохімічне визначення експресії молекулярних маркерів на парафінових зрізах пухлинної тканини проводиться одноразово, тому даний спосіб прогнозу не дозволяє проводити моніторинг ефективності РМЗ до неoad'ювантної хіміотерапії та провести у разі необхідності коригування відповідної схеми лікування.

Феритин - водорозчинний комплекс гідроксиду заліза з білком апоферитином - головний білок в організмі людини, що відповідає за депонування заліза, в нормі у сироватці крові здорових людей він присутній у невеликій кількості (від 10 до 150 нг/мл) [9]. У хворих на РМЗ рівень феритину перевищує показники норми [1-3].

Власне опис виходу, що заявляється.

В основу винаходу, що заявляється, поставлено задачу розробити спосіб прогнозування чутливості до неoad'ювантної терапії у хворих на РМЗ шляхом визначення рівня феритину в сироватці крові хворих до початку неoad'ювантної хіміотерапії, за яким прогнозують її ефективність.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб прогнозування чутливості до неoad'ювантної хіміотерапії у хворих на рак молочної залози базується на визначенні рівня феритину в сироватці крові хворих на РМЗ, і при значеннях рівня феритину від 10 до 200 нг/мл прогнозують чутливість, а при значеннях рівня феритину вище за 200 нг/мл прогнозують резистентність до неoad'ювантної хіміотерапії.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак способу, що заявляється, та технічним результатом винаходу наступний.

Оцінка наведеним способом прогнозу перебігу захворювання у хворих на РМЗ дає можливість відслідковувати в кількісному вимірі рівень сироваткового феритину в динаміці лікування і чутливість до протипухлинної терапії. Показник рівня феритину в сироватці крові хворих на РМЗ знаходиться у прямо пропорційній залежності до ступеня ефективності неoad'ювантної хіміотерапії. Високий рівень феритину свідчить про резистентність до неoad'ювантної хіміотерапії. Спосіб, що заявляється, забезпечує точний прогноз чутливості до

неoad'ювантної хіміотерапії хворих на РМЗ, що забезпечує можливість покращання результатів лікування цього контингенту хворих та знизити загальну токсичність.

Схема застосування способу, що заявляється.

При верифікованому патогістологічному діагнозі перед першим курсом неoad'ювантної хіміотерапії у хворих на РМЗ проводиться визначення рівня феритину в сироватці крові за допомогою методу твердофазного імуноферментного аналізу [10]. Межа розподілу між умовно "чутливими" та "резистентними" рівнями феритину складає 10-200 нг/мл, та вище за 200 нг/мл. Якщо значення рівнів феритину в сироватці крові хворих <200 нг/мл, то чутливість пухлин молочної залози до неoad'ювантної хіміотерапії є високою, а якщо значення рівнів феритину в сироватці крові хворих ≥ 200 нг/мл, - то такі хворі є резистентними до неoad'ювантної хіміотерапії.

Приклади практичного застосування способу

Приклад 1.

Хвора Р., 56 років (історія хвороби № 2051, патогістологічний висновок (ПГЗ) № 2871 від 15.02.2011 р. - інфільтруюча долькова аденокарцинома лівої молочної залози, T2N1M0, стадія IIb), отримала 4 неoad'ювантних курси хіміотерапії за схемою FAC (доксорубіцин, фторурацил, циклофосфан). Рівень феритину в сироватці крові хворої визначали до початку лікування і перед кожним курсом хіміотерапії. Ефективність неoad'ювантної хіміотерапії оцінювали через кожні 2 курси за даними мамографії. Ефект лікування - повна регресія пухлини (відсутність пухлини). Рівень феритину на початку лікування складав 724,7 нг/мл, а наприкінці лікування він знизився до 69,8 нг/мл.

Приклад 2.

Хвора М., 57 років (історія хвороби № 3467, ПГЗ № 9507 від 16.05.2011 р. - інфільтруюча протокова аденокарцинома лівої молочної залози, T2N1M0, стадія IIb), отримала 2 неoad'ювантні курси хіміотерапії за схемою FAC (доксорубіцин, фторурацил, циклофосфан) та 2 курси CAP (цисплатин, доксорубіцин, циклофосфан), зміна схеми була обумовлена резистентністю пухлини до хіміотерапії. Рівень феритину в сироватці крові хворої визначали до початку лікування та перед кожним курсом хіміотерапії. Ефективність неoad'ювантної хіміотерапії оцінювали через кожні 2 курси за даними мамографії. Ефект від лікування - стабілізація росту пухлини (збільшення розміру пухлини менше ніж на 20 % за даними мамографії). Рівень феритину до початку лікування складав 341,5 нг/мл, а наприкінці лікування підвищився до 442,2 нг/мл.

Приклад 3.

Хвора С., 48 років (історія хвороби № 9783, патогістологічне заключення (ПГЗ) № 26343 від 04.01.2011 р. - інфільтруюча долькова аденокарцинома лівої молочної залози, T3N1M0, стадія III), отримала 4 неoad'ювантних курси хіміотерапії за схемою FAC (доксорубіцин, фторурацил, циклофосфан). Рівень феритину в сироватці крові хворої визначали до початку лікування і перед кожним курсом хіміотерапії. Ефективність неoad'ювантної хіміотерапії оцінювали через кожні 2 курси за даними мамографії. Ефект лікування - часткова регресія пухлини (зменшення розмірів пухлини більше ніж на 30 % за даними мамографії.). Рівень феритину на початку лікування складав 169,7 нг/мл, наприкінці лікування знизився до 89,8 нг/мл.

Приклад 4.

Хвора К., 51 рік (історія хвороби № 2076, ПГЗ № 3633 від 25.02.2011 р. - інфільтруюча протокова аденокарцинома правої молочної залози, T3N1M0, стадія III), отримала 2 неoad'ювантних курси хіміотерапії за схемою FAC (доксорубіцин, фторурацил, циклофосфан) та 1 курс CAP (цисплатин, доксорубіцин, циклофосфан), зміна схеми була обумовлена резистентністю пухлини до хіміотерапії. Рівень феритину в сироватці крові хворої визначали до початку лікування і перед кожним курсом хіміотерапії. Ефективність неoad'ювантної хіміотерапії оцінювали через кожні 2 курси за даними мамографії. Ефект від лікування - стабілізація росту пухлини (збільшення розміру пухлини менше ніж на 20 %). Рівень феритину на початку лікування складав 294,5 нг/мл, наприкінці лікування підвищився до 345,9 нг/мл.

Приклад 5. Хвора В., 43 роки (історія хвороби № 70001, ПГЗ № 6339-60 від 25.01.2011 р. - цистаденокарцинома правої молочної залози, T4N1M0, стадія IIb), отримала 2 неoad'ювантних курси хіміотерапії за схемою FAC (доксорубіцин, фторурацил, циклофосфан) та 2 курси MCF (мітоксантрон, циклофосфан, фторурацил), зміна схеми була обумовлена резистентністю пухлини до хіміотерапії. Рівень феритину в сироватці крові хворої визначали до початку лікування та перед кожним курсом хіміотерапії. Ефективність неoad'ювантної хіміотерапії оцінювали через кожні 2 курси за даними мамографії. Ефект лікування - часткова регресія пухлини (зменшення розмірів пухлини більше ніж на 30 % за даними мамографії). Рівень

феритину до початку лікування складав 250,1 нг/мл, а наприкінці лікування знизився до 121,3 нг/мл.

Приклад 6.

Хвора П., 52 роки (історія хвороби № 7014, ПГЗ № 6559-60 від 25.01.2011 р. - цистаденокарцинома правої молочної залози, T4N1M0, стадія IIIb), отримала 2 неоад'ювантних курси хіміотерапії за схемою FAC (доксорубицин, фторурацил, циклофосфан) та 2 курси MCF (мітоксантрон, циклофосфан, фторурацил), зміна схеми була обумовлена резистентністю пухлини до хіміотерапії. Рівень феритину в сироватці крові хворої визначали до початку лікування та перед кожним курсом хіміотерапії. Ефективність неоад'ювантної хіміотерапії оцінювали через кожні 2 курси за даними мамографії. Ефект від лікування - стабілізація росту пухлини (збільшення розміру пухлини менше ніж на 20 %). Рівень феритину до початку лікування складав 350,1 нг/мл, наприкінці лікування підвищився до 501,7 нг/мл.

Клінічну апробацію способу, що заявляється, проведено на базі відділення хіміотерапії Луганського обласного клінічного онкологічного диспансеру та кафедри онкології, радіології та трансфузіології Луганського державного медичного університету. Дослідження проведені у 168 хворих на РМЗ (стадії II-III). Продемонстровано, що запропонований спосіб є точним, високоінформативним, пов'язаний з невеликими матеріальними витратами для його виконання, що свідчить про можливість широкого використання його в клінічній практиці.

Джерела інформації:

1. Mishra S., Sharma D. C, Sharma P. Studies of biochemical parameters in breast cancer with and without metastasis. //Indian J Clin Biochem. -2004.-Vol. 19.-P. 71-75.
2. Ulbrich E.J, Lebrecht A, Schneider I, Ludwig E, Koelbl H, Hefler LA. Serum parameters of iron metabolism in patients with breast cancer.// Anticancer Res.- 2003.- Vol. 23.-5107-5109.
3. Kher A, Moghe G, Deshpande A. Significance of serum ferritin and lactate dehydrogenase in benign and malignant disease of breast.// Indian J Pathol Microbiol.- 1997.- Vol.40.- P.321-326.
4. Martinez-Trafero J.M., de Lobera A.R., Lao J., et al. Serum markers and prognosis in locally advanced breast cancer. // Tumori. - 2005. - Vol.91.-P. 522-530.
5. Serdarevic N., Mehanovic S. The possible role of tumor antigen CA-15-3, CEA and ferritin in malignant and benign disease. // Journal of Health Sciences. - 2012. - Vol. 2. - P. 138-143.
6. Bieglmayer C, Szepesi T., Kopp B. et al. CA15.3, MCA, CAM26, CAM29 are members of a polymorphic family of mucin-like glycoproteins. // Tumor Biol. - 1991. - Vol. 12. - P. 138-148.
- 7.. Dnistrian A.M, Schwartz M.K., Greenberg E.J., et al. Evaluation of CAM26, CAM29, CA15.3 and CEA as circulating tumor markers in breast cancer patients. // Tumor Biol. -1991. - Vol.12. - P. 1282-90.
8. Wachter D. L., Fasching P. A., Haeberle L., Schulz-Wendtland R., Dimmler A., Koscheck T., Renner S. P., Lux M. P., Beckmann M.W., Hartmann A., Rauh C, Schrauder M. G... Prognostic molecular markers and neoadjuvant therapy response in anthracycline-treated breast cancer patients.// Arch Gynecol Obstet Arch Gynecol Obstet. - 2013.- Vol. 287.-P337-344.[прототип]
9. Stevens R.G, Cologne J.B, Nakachi K, Grant E.J, Neriishi K. Body iron stores and breast cancer risk in female atomic bomb survivors.//Cancer Sci. 2011.- Vol. 102.- P.2236-2240.
10. Breve JJ.R, Drukarch B., van Strien M., van Dam A.M. Validated sandwich ELISA for the quantification of tissue transglutaminase in tissue homogenates and cell lysates of multiple species. //Journal of Immunological Methods. - 2008. - Vol. 332. - P. 142-150.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб прогнозування чутливості до неоад'ювантної терапії у хворих на рак молочної залози з верифікованим діагнозом, який **відрізняється** тим, що перед проведенням першого курсу неоад'ювантної хіміотерапії у хворих на РМЗ визначають рівень феритину в сироватці крові, і при значеннях рівня феритину від 10 до 200 нг/мл прогнозують чутливість пухлини до неоад'ювантної хіміотерапії, а при значеннях рівня феритину ≥ 200 нг/мл - резистентність до неоад'ювантної хіміотерапії.

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601