



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 111511

(13) U

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 05438**

(22) Дата подання заявки: **19.05.2016**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.11.2016**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.11.2016, Бюл.№ 21**

(72) Винахідник(и):

**Чехун Василь Федорович (UA),
Лук'янова Наталія Юріївна (UA),
Чехун Святослав Васильович (UA),
Борікун Тетяна Вікторівна (UA),
Яловенко Тетяна Миколаївна (UA),
Клюсов Олександр Миколайович (UA),
Базась Володимир Миколайович (UA),
Анікусько Микола Федорович (UA)**

(73) Власник(и):

**ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ
ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ,
вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022 (UA)**

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

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування чутливості до неоад'ювантної антрациклінвмісної терапії у хворих на рак молочної залози з верифікованим діагнозом, в якому перед початком неоад'ювантної антрациклінвмісної хіміотерапії та перед кожним наступним її курсом у хворих на РМЗ визначають рівні мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та мікроРНК-122 у сироватці крові. У випадку зниження рівнів мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та підвищення рівня мікроРНК-122 роблять висновок щодо високої чутливості пухлини молочної залози до неоад'ювантної антрациклінвмісної хіміотерапії, а у випадку підвищення рівнів мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та зниження рівня мікроРНК-122 - щодо її резистентності.

UA 111511 U

Корисна модель належить до галузі медицини, зокрема до клінічної онкології.

Вдосконалення підходів для лікування раку молочної залози (РМЗ) залишається однією з актуальних проблем онкології у зв'язку з високим рівнем захворюваності та зростанням кількості пацієнтів з резистентними до неоад'ювантної хіміотерапії пухлинами. Проблема прогнозування ефективності медикаментозної терапії РМЗ полягає у відсутності надійних маркерів чутливості пухлин до існуючих протипухлинних препаратів [1].

Сучасним трендом у лікуванні РМЗ є розробка прогностичних процедур, орієнтованих на малоінвазивний аналіз - дослідження біологічних рідин, в першу чергу циркулюючої крові, яке не потребує матеріалу, отриманого безпосередньо з пухлинної тканини. Експериментальними та клінічними дослідженнями показано наявність суттєвих відмінностей між фенотипом клітин РМЗ та нормальними тканинами, що відкриває можливості для використання у клінічній практиці позапухлинних маркерів резистентності, вкрай необхідних у пошуку нових шляхів прогнозування ефективності медикаментозної терапії і перебігу захворювання [2-3].

В останні роки значний інтерес зосереджений на дослідженні нової групи потенційних епігенетичних онкомаркерів - мікроРНК [4-5]. МікроРНК беруть участь в регуляції багатьох клітинних процесів, таких як проліферація, диференціювання, апоптоз, розвиток резистентності тощо. Циркулюючі мікроРНК виступають у ролі месенджерів і підтримують гомеостаз організму. Зокрема, зміни рівнів деяких мікроРНК у сироватці крові асоціюються з особливостями пухлинного росту та розвитком резистентності, оскільки вони беруть участь у регуляції генів, відповідальних за метаболізм ксенобіотиків [6].

Відомі способи прогнозування ефективності лікування РМЗ базуються на визначенні рівня експресії білків (рецепторів гормонів, Ki-67) та наявності мутацій у певних генах пухлинних клітин [7]. Спільним недоліком цих способів є необхідність хірургічного втручання для отримання зразку пухлинної тканини. Натомість, визначення концентрацій загальновизнаних маркерів перебігу РМЗ (раковий ембріональний антиген, СА-15-3, САМ26 та ін.) в сироватці крові хворих дозволяє лише спрогнозувати тривалість періоду виживаності та ймовірність виникнення рецидиву захворювання, проте не надає інформації щодо чутливості пухлин до хіміотерапії [8-9].

Найбільш близьким аналогом способу, що заявляється, є спосіб прогнозування чутливості РМЗ до антрацикліновмісної хіміотерапії за рівнем експресії білків p53 та MDR1 [10].

Позитивним у найближчому аналогу є те, що дослідження рівня експресії цих білкових маркерів дозволяє прогнозувати чутливість пухлин до антрацикліновмісної хіміотерапії і, на підставі отриманих даних, коригувати схеми лікування пацієнтів.

Недоліками найближчого аналога є те, що:

- дослідження експресії білкових маркерів проводиться за допомогою імуногістохімічного методу на парафінових зрізах видаленої пухлини, що не дозволяє *ex tempore* визначати чутливість пухлин хворих на РМЗ до неоад'ювантної хіміотерапії;

- імуногістохімічне визначення експресії білкових маркерів потребує значних витрат часу (від 7 діб і більше) і матеріальних ресурсів.

Власне опис корисної моделі, що заявляється.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити швидкий, високоінформативний, такий, що не потребує пухлинного матеріалу, спосіб прогнозування чутливості до неоад'ювантної антрацикліновмісної хіміотерапії у хворих на РМЗ до початку неоад'ювантної хіміотерапії та під час її проведення для покращення підбору схем хіміотерапії та для моніторингу її ефективності.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб прогнозування чутливості до неоад'ювантної антрацикліновмісної терапії у хворих на РМЗ базується на визначенні рівня циркулюючих мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та -122 у сироватці крові пацієнтів до початку хіміотерапії та після кожного її курсу. Зокрема, підвищення рівнів мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та зниження рівня мікроРНК-122 вказують на розвиток резистентності до ряду протипухлинних препаратів, зокрема антрациклінів [11-12].

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

Аналіз співвідношення рівня зазначених мікроРНК дозволяє оцінити чутливість пухлини до хіміотерапії до початку лікування та в його динаміці. Зниження рівнів мікроРНК-125b (у 3-4 рази), мікроРНК-205 (в 2 рази) та підвищення рівня мікроРНК-122 (у 2 і більше рази) свідчать про терапевтичну ефективність антрацикліновмісних схем неоад'ювантної хіміотерапії. Спосіб, що заявляється, забезпечує точний прогноз чутливості до антрацикліновмісної неоад'ювантної хіміотерапії хворих на РМЗ, що дозволяє проведення неінвазивного, швидкого визначення чутливості тривалістю до двох діб та покращити результати лікування цього контингенту хворих.

Схема застосування способу, що заявляється.

За верифікованого патогістологічного діагнозу перед кожним наступним курсом неоад'ювантної хіміотерапії у хворих на РМЗ проводять визначення рівнів мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та мікроРНК-122 у сироватці крові за допомогою зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. Тривалість виконання способу, що заявляється, - 2 доби, необхідна кількість матеріалу - 500 мкл сироватки крові. Розподіл пухлин на "чутливі" та "резистентні" проводять шляхом порівняння рівнів зазначених мікроРНК з попередніми показниками пацієнта. В разі підвищення рівнів мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та зниження мікроРНК-122 у сироватці крові хворого роблять висновок щодо резистентності пухлини до неоад'ювантної хіміотерапії, яка містить препарати антрациклінового ряду.

Приклади практичного застосування способу

Приклад 1. Хвора Д., 61 рік (історія хвороби № 8041), патогістологічне заключення (ПГЗ) № 19163 від 15.04.2014 р. - інвазивна протокова карцинома лівої молочної залози, T2N1M0, стадія IIb. Рівні мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та мікроРНК-122 в сироватці крові хворої визначали до початку лікування і перед кожним курсом хіміотерапії. Хвора отримала 4 курси неоад'ювантної хіміотерапії за схемою "адриабластин-ендоксан". Ефективність неоад'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.). Рівні мікроРНК-125b та мікроРНК-205 на початку лікування були у 1,7 і 1,5 разу нижче, ніж в середньому по групі хворих відповідно. Після лікування рівні мікроРНК-125b та мікроРНК-205 у сироватці знизились у 1,4 та 1,3 разу, відповідно, а рівень мікроРНК-122 підвищився у 2,3 разу порівняно з показниками перед початком терапії.

Технічного результату корисної моделі досягнуто.

Приклад 2. Хвора Ж., 34 роки (історія хвороби № 4413), ПГЗ № 23759 від 19.05.2014 р. - інвазивна протокова карцинома лівої молочної залози, T2N0M0, стадія IIa. Рівні мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та мікроРНК-122 в сироватці крові хворої визначали до початку лікування і перед кожним курсом хіміотерапії. Хвора отримала 4 неоад'ювантних курси хіміотерапії за схемою АС (епірубіцин, циклофосфан). Ефективність неоад'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.). Рівні мікроРНК-125b та мікроРНК-205 на початку лікування були у 1,4 і 1,3 рази нижче, а мікроРНК-122 у 1,9 разу вище, ніж в середньому по групі хворих відповідно. Після лікування рівні мікроРНК-125b та мікроРНК-205 знизились у 1,6 та 1,4 разу відповідно, а рівень мікроРНК-122 підвищився у 2,1 разу порівняно з початковими рівнями.

Технічного результату корисної моделі досягнуто.

Приклад 3. Хвора П., 42 роки (історія хвороби № 3176), ПГЗ № 44276/14 від 11.09.2014 р. - інвазивна протокова карцинома лівої молочної залози, T2N1M0, стадія IIb. Експресію мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та мікроРНК-122 в сироватці крові хворої визначали до початку лікування і перед кожним курсом хіміотерапії. Хвора отримала 2 курси неоад'ювантної хіміотерапії за схемою "доксорубіцин-ендоксан". 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 % за даними мамографії). Рівні мікроРНК-125b та мікроРНК-205 на початку лікування не відрізнялись від середнього значення по групі хворих. Після лікування рівні мікроРНК-125b та мікроРНК-122 у сироватці не змінились, а мікроРНК-205 - знизились у 1,3 разу порівняно з показниками перед початком терапії.

Технічного результату корисної моделі досягнуто.

Приклад 4. Хвора К., 49 років (історія хвороби № 4113), ПГЗ № 15957 від 02.04.2014 р. - інвазивна протокова карцинома лівої молочної залози, T2N1M0, стадія IIb. Експресію мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та мікроРНК-122 в сироватці крові хворої визначали до початку лікування і перед кожним курсом хіміотерапії. Хвора отримала 2 курси неоад'ювантної хіміотерапії за схемою "ендоксан-доксорубіцин". 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 % за даними мамографії). Рівні мікроРНК-125b та мікроРНК-205 на початку лікування були у 0,6 і 0,7 разу вище, відповідно; рівень мікроРНК-122 - у 1,3 разу нижче, ніж в середньому по групі хворих. Після лікування рівні мікроРНК-125b та мікроРНК-205 у сироватці знизились у 1,3 та 1,3 разу, відповідно, а мікроРНК-122 - підвищився у 1,5 разу порівняно з показниками перед початком терапії.

Технічного результату корисної моделі досягнуто.

Клінічну апробацію способу, що заявляється, проведено у 126 хворих на РМЗ (стадії II-III) на базі Київського міського клінічного онкологічного центру. Продемонстровано, що

запропонований спосіб є швидким, точним, високоінформативним, пов'язаний з невеликими матеріальними витратами для його виконання, що свідчить про можливість широкого використання його в клінічній практиці.

Джерела інформації:

- 5 1. Gonzalez-Angulo A.M., Morales-Vasquez F., Hortobagyi G.N. Overview of resistance to systemic therapy in patients with breast cancer / Breast Cancer Chemoresensitivity. - New York: Springer, 2007. - P. 1-22.
2. Vlahou A., Laronga C., Wilson L. et al. A novel approach toward development of a rapid blood test for breast cancer // Clin. Breast Cancer. - 2003. - Vol. 4, № 3. - P. 203-209.
- 10 3. Heneghan H.M., Miller N., Lowery A.J. et al. Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer // Ann. Surg. - 2010. - Vol. 251, № 3. - P. 499-505.
4. Mitchell P.S., Parkin R.K., Kroh E.M. et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection // Proc. Natl Acad. Sci. USA. - 2008. - Vol. 105, № 30. - P. 10513-10518.
5. Andorfer C.A., Necela B.M., Thompson E.A. et al. MicroRNA signatures: clinical biomarkers for the diagnosis and treatment of breast cancer // Trends Mol. Med. - 2011. - Vol. 17, № 6. - P. 313-319.
- 15 6. Jung E.J., Santarpia L., Kim J. et al. Plasma microRNA 210 levels correlate with sensitivity to trastuzumab and tumor presence in breast cancer patients // Cancer. - 2012. - Vol. 118, № 10. - P. 2603-2614.
7. Wachter D.L., Fasching P.A., Haeblerle L. et al. Prognostic molecular markers and neoadjuvant therapy response in anthracycline-treated breast cancer patients // Arch. Gynecol. Obstet. - 2013, № 2. - Vol. 287. - P. 337-344.
- 20 8. Shao Y., Sun X., He Y. et al. Elevated Levels of Serum Tumor Markers CEA and CA15-3 Are Prognostic Parameters for Different Molecular Subtypes of Breast Cancer // PloS One. - 2015. - Vol. 10, № 7. - e0133830.
9. Parise C.A., Caggiano V. Breast cancer survival defined by the ER/PR/HER2 subtypes and a surrogate classification according to tumor grade and immunohistochemical biomarkers // J. Cancer Epidemiol. - 2014. - Vol. 2014. - P. 46925-46937.
- 25 10. Kim T., Han W., Kim M. et al. Predictive significance of p53, Ki-67, and Bcl-2 expression for pathologic complete response after neoadjuvant chemotherapy for triple-negative breast cancer // J. Breast Cancer. - 2015. - Vol. 18, № 1. - P. 16-21.
- 30 11. Cai Y., Yan X., Zhang G. et al. MicroRNA-205 increases the sensitivity of docetaxel in breast cancer // Oncol. Lett. - 2016. - Vol. 11, № 2. - P. 1105-1109.
12. Li Q., Ma M., Luo Y. et al. Circulating miR-19a and miR-205 in serum may predict the sensitivity of luminal A subtype of breast cancer patients to neoadjuvant chemotherapy with epirubicin plus paclitaxel // PloS One. - 2014. - Vol. 9, № 8. - e104870.
- 35

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування чутливості до неoad'ювантної антрациклінвмісної терапії у хворих на рак молочної залози з верифікованим діагнозом, який **відрізняється** тим, що перед початком неoad'ювантної антрациклінвмісної хіміотерапії та перед кожним наступним її курсом у хворих на РМЗ визначають рівні мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та мікроРНК-122 у сироватці крові, і у випадку зниження рівнів мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та підвищення рівня мікроРНК-122 роблять висновок щодо високої чутливості пухлини молочної залози до неoad'ювантної антрациклінвмісної хіміотерапії, а у випадку підвищення рівнів мікроРНК-125b, мікроРНК-205 та зниження рівня мікроРНК-122 - щодо її резистентності.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

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

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