



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **111914**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 05435**

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

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.11.2016**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.11.2016, Бюл.№ 22**

(72) Винахідник(и):

**Чехун Василь Федорович (UA),
Лук'янова Наталія Юріївна (UA),
Шепеленко Ірина Віталіївна (UA),
Демаш Дмитро Валерійович (UA),
Борікун Тетяна Вікторівна (UA),
Клюсов Олександр 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 МЕТАСТАЗУВАННЯ У ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування метастазування у хворих на рак молочної залози з верифікованим діагнозом, у якому перед проведенням комплексного лікування у сироватці крові хворих визначають рівень мікроРНК-34а та мікроРНК-155. При рівнях мікроРНК-34а вище 2,5 ум. од. та мікроРНК-155 вище 0,9 ум. од. роблять висновок щодо наявності метастазів.

UA 111914 U

Корисна модель належить до медицини, зокрема до клінічної онкології.

Метастатичне ураження при раку молочної залози (РМЗ) є одним з найпоширеніших ускладнень даного захворювання. Розвиток множинних метастазів у лімфовузлах, перехресне метастазування в другу молочну залозу значно знижує виживаність та період ремісії у таких

хворих. Вчасне виявлення метастазів є одним з першочергових завдань діагностики, оскільки лікування пацієнтів з метастазами має більш комплексний підхід і потребує додаткових обстежень [1-2]. Актуальною є розробка малоінвазивних прогностичних методик, які дозволяють відслідковувати особливості перебігу пухлинного процесу у кожному окремому випадку, в тому числі виявляти метастази.

Новітні дослідження механізмів метастазування РМЗ свідчать, що ступінь васкуляризації пухлини, здатність пухлинних клітин викликати деградацію матриксу, синтезувати матриксні металопротеїнази обумовлені не лише генетичними змінами, а у багатьох випадках регулюються епігенетично. Одним з рушійних механізмів такої регуляції є мікроРНК [3-4]. Експресія у пухлинних клітинах мікроРНК, відповідальних за епітеліально-мезенхімальний перехід, інвазію, міграцію пухлинними клітинами, впливає на рівні циркулюючих мікроРНК, що виконують роль месенджерів, і, тим самим, опосередковує як формування метастатичних ніш, так і розвиток метастазів [5]. Тому перспективним є використання циркулюючих мікроРНК як маркерів метастазування.

Відомим способом виявлення метастазів є пальпація лімфовузлів [6].

Основним недоліком зазначеного способу є його суб'єктивність та низька надійність отриманих результатів. Іншим підходом є дослідження мутацій у панелі ключових генів, які відповідають за різні аспекти перебігу захворювання (TP53, BRCA1, BRCA2, MDR1 тощо), але цей аналіз є дорогим і працемістким [7-8]. На сьогодні у клінічній практиці наявність метастазів виявляють за допомогою УЗД, МРТ, визначення онкомаркерів PEA, CA15-3, CA27-29. Недоліком зазначених способів є їх працемісткість, висока вартість та неможливість дати результат щодо точної наявності метастазів в разі їх малого розміру. У зв'язку з цим удосконалення існуючих та розробка нових молекулярних методів виявлення метастазів дозволить оптимізувати виявлення метастатичного процесу та покращити результати лікування пацієнтів.

Найбільш близьким аналогом способу, що заявляється, є виявлення метастазів у лімфатичних вузлах з використанням імуногістохімічного аналізу [9]. Позитивним у найближчому аналогу є те, що виявлення метастазів проводять з використанням антитіл, специфічних до ПАН-цитокератину, що дозволяє з високою точністю охарактеризувати метастатичне ураження видалених лімфатичних вузлів.

Недоліками найближчого аналога є те, що він не дозволяє проводити оцінку наявності віддалених метастазів, а також те, що його використання потребує оперативного втручання і видалення низки лімфатичних вузлів, що є травматичним для пацієнта, супроводжується ускладненнями, а також виконання самої методики є трудомістким та тривалим. При цьому достовірність отриманих результатів залежить від кваліфікації патоморфолога.

В основу корисної моделі поставлено задачу - розробити неінвазивний спосіб прогнозування метастазування у хворих на РМЗ, який забезпечує можливість діагностування віддалених метастазів без хірургічного втручання та лімфодисекції, і, таким чином, підвищує ефективність діагностики та покращує комплексне лікування хворих на РМЗ.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб виявлення метастазів у хворих на РМЗ базується на визначенні рівнів циркулюючих мікроРНК-155 та мікроРНК-34а у сироватці крові пацієнтів. Зокрема, підвищення рівнів мікроРНК-155 та мікроРНК-34а вказують на наявність метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах та метастатичне ураження віддалених органів [10].

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

Аналіз співвідношення рівня зазначених мікроРНК дозволяє оцінити наявність регіонарних або віддалених метастазів РМЗ. Зокрема, високі рівні мікроРНК-34а (більш ніж 2 ум. од.) та мікроРНК-155 (більш ніж 0,9 ум. од.) свідчать про наявність регіонарних та/або віддалених метастазів.

Запропонований спосіб забезпечує неінвазивне точне виявлення наявності метастазів у хворих на РМЗ, що дозволяє застосовувати адекватні схеми лікування і покращити прогноз перебігу захворювання.

За верифікованого патогістологічного діагнозу у хворих на РМЗ проводять визначення рівнів мікроРНК-155 та мікроРНК-34а 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. При високих рівнях мікроРНК-34а (>2,5 ум. од.) та мікроРНК-155 (>0,9 ум. од.) роблять висновок щодо наявності метастазів.

Приклади практичного застосування способу

Приклад 1. Хвора І., 64 роки (історія хвороби № 3957/13; патогістологічний висновок (ПГЗ) № 14432-49 від 27.03.2013 р. - інвазивна долькова карцинома молочної залози, T2N1M0, стадія IIb; є метастази в 15 лімфовузлах. Це підтверджується результатами визначення рівнів мікроРНК в сироватці крові: рівень мікроРНК-34а становив 3,5 ум. од.; мікроРНК-155-1,4 ум. од.

Технічного результату корисної моделі досягнуто.

Приклад 2. Хвора К., 74 роки (історія хвороби № 5877/13; ПГЗ № 21971-82 від 17.05.2013 р. - інвазивна протокова карцинома молочної залози, T2N1M0, стадія IIb; є метастази в 6 лімфовузлах). Це підтверджується результатами визначення рівнів мікроРНК в сироватці крові: рівень мікроРНК-34а - 6,2 ум. од.; мікроРНК-155-1,9 ум. од.

Технічного результату корисної моделі досягнуто.

Приклад 3. Хвора Х., 76 років (історія хвороби № 4797/13; ПГЗ № 21874-86/13 від 17.05.2013 р. - низькодиференційована карцинома молочної залози, T1N0M0, стадія I; метастазів у лімфатичних вузлах не виявлено). Це підтверджується результатами визначення рівнів мікроРНК в сироватці крові: рівень мікроРНК-34а - 2,1 ум. од., мікроРНК-155-0,9 ум. од.

Технічного результату корисної моделі досягнуто.

Приклад 4. Хвора С., 52 роки (історія хвороби № 3578/13; ПГЗ № 13298-10 від 25.03.2013 р. - інвазивна протокова карцинома молочної залози, T2N0M0, стадія IIa; метастазів у лімфатичних вузлах не виявлено). Це підтверджується результатами визначення рівнів мікроРНК в сироватці крові: рівень мікроРНК-34а - 2,2 ум. од., а мікроРНК-155-0,7 ум. од.

Технічного результату корисної моделі досягнуто.

Клінічну апробацію способу, що заявляється, проведено у 126 хворих на РМЗ (стадії I-III) на базі Київського міського клінічного онкологічного центру. Запропонований спосіб є неінвазивним, високоінформативним, точним, пов'язаний з невеликими матеріальними витратами для його виконання, що свідчить про можливість широкого його використання в клінічній практиці.

Джерела інформації:

1. Lawson D.A., Bhakta N.R., Kessenbrock K. et al. Single-cell analysis reveals a stem-cell program in human metastatic breast cancer cells //Nature. - 2015. - Vol. 526. - P. 131-135.

2. Scully O.J., Bay B.H., Yip G. et al. Breast cancer metastasis //Cancer Genomics-Proteomics. - 2012. - Vol. 9, № 5. - P. 311-320.

3. Zhu W., Qin W., Atasoy U. et al. Circulating microRNAs in breast cancer and healthy subjects //BMC Res. Notes. - 2009. - Vol. 2, № 1. - P. 89-101.

4. Hagrass H.A., Sharaf S., Pasha H.F. et al. Circulating microRNAs-a new horizon in molecular diagnosis of breast cancer //Genes & Cancer. - 2015. - Vol. 6, № 5-6. - P. 281-293.

5. Roth C., Rack B., Müller V. et al. Circulating microRNAs as blood-based markers for patients with primary and metastatic breast cancer //Breast Cancer Res. - 2012. - Vol. 12, № 6. - P. 90-103.

6. Давиденко И.С. Некоторые аспекты диагностики и лечения рака молочной железы //Рос. биотерапевт. журн. - 2010. - Т. 9, № 3. - С. 57-69.

7. Van't Veer L.J., Dai H., Van De Vijver M.J. et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer //Nature. - 2007. - Vol. 415, № 6871. - P. 530-536.

8. Miller L.D., Smeds J., George J. et al. An expression signature for p53 status in human breast cancer predicts mutation status, transcriptional effects, and patient survival //Proc. Natl Acad. Sci. USA. - 2005. - Vol. 102, № 38. - P. 13550-13555.

9. Троценко И.Д., Тащян А.А., Запиров М.М. та ін. Анализ экспрессии цитокератина-19 в лимфатических узлах для верификации метастазов рака молочной железы //Вестн. Рос. научн. центра рентгенорадиологии Минздрава России. - 2014. - Т.4. - С. 21-34.

10. Eichelser C., Flesch-Janys D., Chang-Claude J. et al. Deregulated serum concentrations of circulating cell-free microRNAs miR-17, miR-34a, miR-155, and miR-373 in human breast cancer development and progression //Clin. Chemistry-2013. - Vol. 59, № 10. - P. 1489-1496.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування метастазування у хворих на рак молочної залози з верифікованим діагнозом, який **відрізняється** тим, що перед проведенням комплексного лікування у сироватці крові хворих визначають рівень мікроРНК-34а та мікроРНК-155, і при рівнях мікроРНК-34а вище 2,5 ум. од. та мікроРНК-155 вище 0,9 ум. од. роблять висновок щодо наявності метастазів.

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

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