



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **115522** (13) **U**  
(51) МПК  
**G01N 33/49** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 08320**  
(22) Дата подання заявки: **28.07.2016**  
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **25.04.2017**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.04.2017, Бюл.№ 8**

(72) Винахідник(и):  
**Сивак Любов Андріївна (UA),**  
**Касап Наталія Вікторівна (UA),**  
**Лялькін Сергій Анатолійович (UA),**  
**Верьовкіна Наталія Олегівна (UA),**  
**Тарасенко Тетяна Євгенівна (UA),**  
**Сторчай Дарія Миколаївна (UA),**  
**Тодор Ігор Миколайович (UA),**  
**Лук'янова Наталія Юріївна (UA),**  
**Чехун Василь Федорович (UA)**  
(73) Власник(и):  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ,**  
вул. Ломоносова, 33/43, м. Київ, 03022 (UA),  
**ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ**  
**ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ**  
**ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ**  
**АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ,**  
вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022 (UA)

## (54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПЛАТИНОВІСНОЇ ПОЛІХІМІОТЕРАПІЇ У ХВОРИХ НА МЕТАСТАТИЧНИЙ ТРИЧІ НЕГАТИВНИЙ РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ

### (57) Реферат:

Спосіб прогнозування ефективності платиновмісної поліхіміотерапії у хворих на метастатичний тричі негативний рак грудної залози включає імуногістохімічне дослідження біопсійного матеріалу. Перед проведенням першого курсу платиновмісної поліхіміотерапії визначають рівень сумарної протеолітичної активності плазми крові, і при його значеннях  $<0,02$  мг/мл роблять висновок про неефективність платиновмісної поліхіміотерапії. При середньому рівні ( $0,03-0,05$  мг/мл) прогнозують стабілізацію захворювання. При значеннях  $\geq 0,05$  мг/мл роблять висновок про повну або часткову регресію пухлини та ефективність платиновмісної поліхіміотерапії.

UA 115522 U



Корисна модель належить до галузі медицини, а саме - до клінічної онкології, і може бути використана для прогнозування ефективності платиновмісної хіміотерапії у хворих на рак грудної залози.

Тричі негативний рак грудної залози (ТН РГЗ) характеризується відсутністю експресії рецепторів стероїдних гормонів (естрогену і прогестерону) та епідермального фактора росту II типу (Erb-B2/EGFR-2, HER2/neu), що суттєво ускладнює лікування, яке набуває агресивного перебігу, з раннім метастатичним потенціалом та високою проліферативною активністю. Через відсутність мішеней до традиційної протипухлинної терапії, єдиною опцією для цього підтипу пухлин є хіміотерапія (ХТ). Молекулярно-біологічні різновиди ТН РГЗ включають різні підходи до хіміотерапевтичного лікування, проте і на сьогодні відсоток хворих із досягненням стабільно позитивної відповіді залишається низьким [1,2].

Перспективним напрямом підвищення ефективності лікування цієї прогностично несприятливої категорії хворих є визначення індивідуальних факторів, які б надавали інформацію щодо чутливості пухлини до хіміопрепаратів ще до їх введення в організм [3, 4].

За прототип вибрано спосіб прогнозування ефективності неоад'ювантної хіміотерапії у хворих на операбельний базальноподібний ТН РГЗ шляхом визначення імуністохімічним методом біопсійного матеріалу маркера клітинної проліферації Ki-67, експресії до CK5/6 та EGFR1 (Патент № 2538638, RU, 9 МПК G01N 33/48. Спосіб прогнозування ефективності неоад'ювантної хіміотерапії у больных операбельным базальноподобным трипл-негативным раком молочной железы / Слонимская Е.М., Щепотин И.Б., Брагина О.Д. [и др.]; заявитель и патентовладелец Российская Федерация (RU). - № 2013151982/15; заявл. 25.11.13; опубл. 10.01.15.-Бюл. № 1).

Позитивним у прототипі є те, що для прогнозу ефективності лікування, окрім негативної ядерної експресії до рецепторів естрогену і прогестерону та мембранної експресії до HER2/neu, додатково визначають декілька предикторів (маркер клітинної проліферації Ki-67 та рівні експресії до CK5/6 і EGFR1), з визначенням показників чутливості і специфічності та врахуванням морфологічної гетерогенності ТН РГЗ.

Недоліком прототипу є неможливість прогнозування ефективності платиновмісної ПХТ у хворих на ТН РГЗ.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб прогнозування ефективності платиновмісної поліхіміотерапії у хворих на тричі негативний рак грудної залози шляхом визначення рівня сумарної протеолітичної активності периферичної крові, що дозволить забезпечити можливість індивідуалізованого підбору хіміопрепаратів ще до їх введення в організм і таким чином покращити результати лікування.

Поставлена задача вирішується наступним чином:

Хворим з верифікованим діагнозом метастатичний тричі негативний рак грудної залози до початку паліативного лікування платиновмісними хіміопрепаратами за схемами CAP: циклофосфан - 500 мг/м<sup>2</sup>, доксорубіцин - 50 мг/м<sup>2</sup>, цисплатин - 50 мг/м та TP: паклітаксел - 175 мг/м<sup>2</sup>, цисплатин - 75 мг/м<sup>2</sup>, проводять визначення рівня сумарної протеолітичної активності сироватки периферичної крові за допомогою електрофотометрії з використанням флуоресцентної мітки FITC. У мікроцентрифужну пробірку вносять 10 мкл зразка крові, додають 20 мкл Incubation Buffer та 20 мкл FITC-Casein Substrate. Для приготування нульового контролю (blank) в мікроцентрифужну пробірку вносять 10 мкл ультрачистої води, додають 20 мкл Incubation Buffer та 20 мкл FITC-Casein Substrate. Обережно перемішують кожну пробірку та інкубують при 37 °С в темряві протягом 60 хв. Після інкубації в кожну пробірку додають 150 мкл 0,6 N TC A Solution. Аналогічно перемішують та інкубують при 37 °С в темряві протягом 30 хв. Відцентрифуговують протягом 10 хв при 10000 Чг. Для вимірювання флуоресценції додають по 10 мкл супернатанту і 1 мл Assay Buffer в пробірку і перемішують. Вносять 200 мкл в лунку чорного 96-лункового планшета. Записують інтенсивність флуоресценції Ex/Em=485/535 нм. При низькому рівні сумарної протеолітичної активності сироватки крові < 0,02 мг/мл - прогнозують прогресування хвороби, а отже неефективність платиновмісної ПХТ. При середньому рівні сумарної протеолітичної активності сироватки крові 0,03-0,05 мг/мл - роблять висновок про стабілізацію захворювання. При високому рівні сумарної протеолітичної активності сироватки крові > 0,05 мг/мл - очікують повної або часткової регресії пухлини, тобто ефективності платиновмісної ПХТ.

Ефективність платиновмісної ПХТ визначали за критеріями RECIST 1.1.

За заявленим способом у науково-дослідному відділенні хіміотерапії солідних пухлин Національного інституту раку проліковано 73 хворих на метастатичний тричі негативний рак грудної залози. Так, у хворих, які досягли повної або часткової регресії пухлини, середній рівень сумарної протеолітичної активності периферичної крові був достовірно вищий (1,05±9,77;

$p < 0,001$ ), за стабілізації процесу - достовірно нижчий ( $0,43 \pm 0,058$ ;  $p < 0,001$ ), а за прогресування захворювання - визначали найнижчий його рівень ( $0,03 \pm 0,05$ ;  $p < 0,001$ ).

Прикладами реалізації заявленого способу є витяги з історій хвороб двох пацієнток.

1. Хвора М., 54 роки, історія хвороби № 472.

5 Звернулася в науково-дослідне відділення хіміотерапії солідних пухлин Національного інституту раку зі скаргами на сухий періодичний кашель, біль у правому підребер'ї, вузлові утворення на грудній стінці. Хворіє близько 3 років. Вперше звернулася до Національного інституту раку у 2011 р. з приводу новоутворення у лівій молочній залозі. Після обстеження було встановлено діагноз: рак лівої грудної залози, T2N1Mo, ст. 2B, кл. гр. 2. Виконано  
10 радикальну мастектомію за Мадденом зліва. Патогістологічний висновок (ПГЗ) № 46204-208 від 08.11.11 - інфільтруюча залозиста аденокарцинома лівої грудної залози. Результати імуногістохімічного дослідження (ІГХ) № 1243: ER-; PR-; HER2-. Хвора отримала в післяопераційному періоді 6 ад'ювантних циклів ПХТ за схемою FAC (доксорубіцин, 5-фторурацил, ендоксан). У листопаді 2014 р. за даними комп'ютерної томографії (КТ) органів  
15 грудної порожнини (ОГП), органів черевної порожнини (ОЧП), малого таза (М/Т) виявлено прогресування захворювання: метастази (мтс) в надключичні лімфатичні вузли (л/в), мтс в л/в середостіння, множинні мтс в легені, множинні мтс в печінку, мтс в селезінку, передню грудну стінку. Надалі визначали сумарну протеазну активність (ПРА) периферичної крові. У мікроцентрифужну пробірку вносили 10 мкл зразка крові, додавали 20 мкл Incubation Buffer та  
20 мкл FITC-Casein Substrate. Для приготування нульового контролю (blank) в мікроцентрифужну пробірку вносили 10 мкл ультрачистої води, додавали 20 мкл Incubation Buffer та 20 мкл FITC-Casein Substrate. Обережно перемішували кожну пробірку та інкубували при 37 °C в темряві протягом 60 хв. Після інкубації в кожну пробірку додавали 150 мкл 0,6 N TCA Solution. Перемішували та інкубували при 37 °C в темряві протягом 30 хв.  
25 Відцентрифугували протягом 10 хв при 10000 Чг. Для вимірювання флуоресценції вносили по 10 мкл супернатанту і 1 мл Assay Buffer в пробірку і перемішували. Вносили 200 мкл в лунку чорного 96-лункового планшета. Записували інтенсивність флуоресценції Ex/Em=485/535 нм. Рівень сумарної ПРА периферичної крові хворої до початку паліативного лікування становив 1,7мг/мл. Хворій призначено платиновмісну ПХТ за схемою TP. Ефективність лікування оцінювали за даними КТ. Ефект лікування після 3 курсів платиновмісної ПХТ - часткова регресія пухлини (зменшення загального розміру пухлини на 67 %).

II. Хвора Ш., 58 років, історія хвороби № 10224.

Звернулася в науково-дослідне відділення хіміотерапії солідних пухлин Національного інституту раку зі скаргами на задишку, вузлові утворення на грудній стінці. Хворіє близько 4  
35 років. У 2010 р. встановлено діагноз: рак правої грудної залози, T2N1Mo, ст. 2B, кл. гр. 2. Виконано радикальну мастектомію за Мадденом справа. ПГЗ № 25140-53 від 25.10.10. - інвазивна протокова аденокарцинома правої грудної залози. Результати ІГХ № 1261: ER-; PR-; HER2-. Хвора отримала комбіноване лікування: 6 ад'ювантних циклів ПХТ за схемою FAC (доксорубіцин, 5-фторурацил, ендоксан).

40 У липні 2014 р. за даними КТ ОГК, ОЧП м/т виявлено прогресування захворювання, мтс в акселярні л/в зліва, мтс дисемінація по шкірі передньої грудної стінки, мтс ексудативний плеврит, множинні мтс в печінку. Надалі визначали сумарну протеазну активність (ПРА) периферичної крові. У мікроцентрифужну пробірку вносили 10 мкл зразка крові, додавали 20 мкл Incubation Buffer та 20 мкл FITC-Casein Substrate. Для приготування нульового контролю (blank) в мікроцентрифужну пробірку вносили 10 мкл ультрачистої води, додавали 20 мкл Incubation Buffer та 20 мкл FITC-Casein Substrate. Обережно перемішували кожну пробірку та інкубували при 37 °C в темряві протягом 60 хв. Після інкубації в кожну пробірку додавали 150 мкл 0,6 N TCA Solution. Перемішували та інкубували при 37 °C в темряві протягом 30 хв.  
45 Відцентрифугували протягом 10 хв при 10000 Чг. Для вимірювання флуоресценції вносили по 10 мкл супернатанту і 1 мл Assay Buffer в пробірку і перемішували. Вносили 200 мкл в лунку чорного 96-лункового планшета. Записували інтенсивність флуоресценції Ex/Em=485/535 нм. Рівень сумарної ПРА периферичної крові хворої до початку паліативного лікування - 0,01 мг/мл. Хворій призначено ПХТ за схемою ТС. Після 3-х курсів проведено оцінку ефективності лікування за допомогою КТ ОГК, ОЧП, М/Т. За даними КТ - прогресування захворювання (поява нових вогнищ).  
50 нових вогнищ).

Джерела інформації:

1. Трижды негативный рак грудной железы: современный взгляд на проблему / Л.А. Сивак, С.А. Лялькин, Н.Н. Майданевич [и др.] // Клиническая онкология. - 2013. - № 3 (11). - С. 60-62.

2. Triple negative breast cancer versus non-triple negative breast cancer treated with breast conservation surgery followed by radiotherapy: a systematic review and meta-analysis / X.B. Pan, S. Qu, Y.M. Jiang, X.D. Zhu // Breast Care (Basel). - 2015. - Vol. 10, № 6. - P. 413-416.

5 3. Direct detection of circulating free DNA extracted from serum samples of breast cancer using locked nucleic acid molecular beacon / Z. Gui, Q. Wang, J. Li [et al.] // Talanta. - 2016. - Vol. 154. - P. 520-525.

4. Participation of Omi Htra2 serine-protease activity in the apoptosis induced by cisplatin on SW480 colon cancer cells / F.G. Pruefer, F. Lizarraga, V. Maldonado, J. Melendez-Zajgla // J. Chemother.-2008. - Vol. 20, № 3. - P. 348-354.

10 5. Патент № 2538638, RU, 9 МПК G01N 33/48. Способ прогнозирования эффективности неоадьювантной химиотерапии у больных операбельным базальноподобным трипл-негативным раком молочной железы / Слонимская Е.М., Щепотин И.Б., Брагина О.Д. [и др.]; заявитель и патентовладелец Российская Федерация (RU). - № 2013151982/15; заявл. 25.11.13; опубл. 10.01.15. - Бюл. № 1 (прототип).

15

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування ефективності платиновмісної поліхіміотерапії у хворих на метастатичний тричі негативний рак грудної залози, що включає імуногістохімічне дослідження біопсійного матеріалу, який **відрізняється** тим, що перед проведенням першого курсу платиновмісної поліхіміотерапії визначають рівень сумарної протеолітичної активності плазми крові, і при його значеннях  $<0,02$  мг/мл роблять висновок про неефективність платиновмісної поліхіміотерапії; при середньому рівні (0,03-0,05 мг/мл) прогнозують стабілізацію захворювання; при значеннях  $\geq 0,05$  мг/мл роблять висновок про повну або часткову регресію пухлини та ефективність платиновмісної поліхіміотерапії.

20

25

---

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